

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA *Lactobacillus plantarum* 1
YANG DIISOLASI DARI INDUSTRI PENGOLAHAN PATI SAGU
TERHADAP BAKTERI PATOGEN *Escherichia coli* FNCC-19 DAN
Staphylococcus aureus FNCC-15**

**ANTIMICROBIAL ACTIVITY of *Lactobacillus plantarum* 1
ISOLATED FROM SAGO STARCH PROCESSING INDUSTRY AGAINST
BACTERIAL PATHOGENS *Escherichia coli* FNCC-19 AND
Staphylococcus aureus FNCC-15**

Noni Afriani¹, Yusmarini² and Usman Pato²

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas
Pertanian, Universitas Riau, Kode Pos 28293, Indonesia

Noniafrianithp@yahoo.com

ABSTRACT

The purpose of this study was to determined and measure the antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* 1 isolated from sago starch processing industry against pathogenic bacteria *Escherichia coli* FNCC-15 and *Staphylococcus aureus* FNCC-19. The research was carried out experimentally using Completely Randomized Design (CRD) with four as treatments and four replications. Antimicrobial activity was tested using the well diffusion method and the paper disc diffusion method. Result of analysis of variance showed that the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolates and cell-free supernatant of bacteria *Staphylococcus aureus* FNCC-15 and *Escherichia coli* FNCC-19 were significantly different ($P < 0.05\%$). T test result showed that the inhibition zone produced acid between bacteria isolates to cell-free supernatant were significantly different ($P < 0.05\%$). The average diameter inhibition zone of lactic acid bacteria isolated against *Staphylococcus aureus* FNCC-15 were from 6.10 to 8.08 mm. The average diameter inhibition zone of lactic acid bacteria isolated against *Escherichia coli* FNCC-19 were from 6.80 to 9.20 mm. The average diameter cell-free supernatant inhibition zone against bacteria *Staphylococcus aureus* FNCC-15 were from 1.22 to 2.41 mm and inhibition cell-free supernatant against *Escherichia coli* FNCC-19 ranged from 2.06 to 3.50 mm. The results of this study indicate that the isolates of *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-12112 and the supernatant had greater antimicrobial activity than isolates of *Lactobacillus plantarum* 1RN2-53.

Keywords: Lactic acid, Antimicrobials, *Lactobacillus plantarum* 1, Supernatant.

PENDAHULUAN

Senyawa antimikroba adalah senyawa kimiawi atau biologis yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba, baik secara

alamiah ataupun secara sengaja ditambahkan ke dalam makanan. Bakteri asam laktat (BAL) dapat menghasilkan senyawa antimikroba yang mampu menghambat

¹Mahasiswa Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau

²Staf Pengajar Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau

pertumbuhan mikroba patogen dan pembusuk pada bahan makanan dan dapat memperpanjang daya simpan produk pangan. Senyawa-senyawa antimikroba yang dihasilkan BAL antara lain asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin.

Bakteri asam laktat termasuk golongan mikroorganisme yang aman ditambahkan pada makanan karena tidak menghasilkan toksin dan dikenal dengan sebutan *food grade microorganism* yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan (Alakomi dkk., 2000). Bakteri asam laktat dalam industri pengolahan pangan telah digunakan sebagai kultur starter untuk berbagai ragam fermentasi daging, susu dan sayur-sayuran. Peranan BAL adalah untuk memperbaiki citarasa produk fermentasi dan juga mempunyai efek pengawetan.

Bakteri asam laktat mampu menghasilkan senyawa antimikroba salah satunya *Lactobacillus plantarum* dan mempunyai kemampuan sebagai probiotik. Bakteri asam laktat mampu menghasilkan senyawa antimikroba salah satunya *Lactobacillus plantarum* dan mempunyai kemampuan sebagai probiotik. Wisti dkk. (2014) menyatakan bahwa *Lactobacillus plantarum* mampu menghasilkan senyawa antimikroba seperti *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 dan *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 yang diisolasi dari susu kedelai terfermentasi secara spontan. *Lactobacillus plantarum* mempunyai kemampuan untuk menghambat mikroorganisme patogen pada bahan pangan dengan daerah penghambatan terbesar dibandingkan dengan bakteri asam laktat yang lainnya. *Lactobacillus plantarum* mampu

hidup dalam kondisi asam yang rendah serta menghasilkan antimikroba bakteriosin yang mampu menekan pertumbuhan mikroba patogen.

Kusumaningrum dkk. (2014) telah melakukan isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari industri pengolahan pati sagu. Identifikasi lanjutan dilakukan oleh Yusmarini dkk. (2014) menggunakan API Kit 50 CHL. Hasil penelitian mendapatkan *Lactobacillus plantarum* 1 yang bersifat amilolitik. Kemampuan *Lactobacillus plantarum* 1 sebagai agensia probiotik dalam hal ini belum diketahui. Penggunaan BAL sebagai agensia probiotik dalam bidang industri semakin mengalami peningkatan.

Havenaar dkk. (1992) menyatakan bahwa probiotik merupakan kultur tunggal maupun campuran dari mikroba hidup, memiliki efek menguntungkan bagi inangnya dengan cara menjaga keseimbangan mikroflora alami dalam tubuh. Syarat sebagai probiotik diantaranya memiliki aktivitas antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba, terutama mikroorganisme patogen dan pembusuk. Berdasarkan uraian di atas maka telah dilakukan penelitian dengan judul “**Aktivitas Antimikroba *Lactobacillus plantarum* 1 yang Diisolasi dari Industri Pengolahan Pati Sagu terhadap Bakteri Patogen *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15**”.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Analisis Hasil

Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Riau. Waktu penelitian berlangsung pada bulan Maret hingga September 2016.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-53, *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-12112 yang diperoleh dari koleksi pribadi Dr. Yusmarini, S.Pt., M.P. Sebagai pembanding digunakan isolat *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040. Bakteri uji yang digunakan *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pusat Antar Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Media yang digunakan antara lain *De Man Ragosa Sharpe Broth* (MRS Broth), *Muller Hinton Agar* (MHA), *Nutrient Broth* (NB), spritus, alkohol dan akuades.

Peralata yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, kuvet, pipet tetes kaca dan gelas ukur, jarum ose, *autoclave*, mikro pipet, timbangan analitik, inkubator, refrigerator, ruang inokulasi (*laminar-flow*), *automatic mixer*, alat sentrifugasi, spatula, batang pengaduk, *hockey stick*, penjepit, aluminium foil, jangka sorong, lampu bunsen, rak tabung reaksi, kertas cakram, gunting, plastik kaca, tisu, kertas label, detergen, karet, kapas, serta alat dokumentasi dan alat tulis.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL)

dengan 4 perlakuan dan 4 kali ulangan, dengan menguji aktivitas antimikroba BAL yang diisolasi dari industri pengolahan pati sagu terhadap bakteri patogen yaitu *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15. Perlakuan dalam penelitian ini adapun BAL yang diuji sebagai berikut:

1. *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-53
2. *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-12112
3. *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051
4. *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040

Aktivitas antimikroba diuji dengan menggunakan metode difusi sumur dan difusi kertas cakram. Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis secara statistik.

Pelaksanaan Penelitian

Sterilisasi Peralatan

Peralatan yang digunakan dicuci dengan detergen sampai bersih, kemudian dilakukan pengeringan di dalam oven pengering dan dihindarkan dari debu dan kotoran. Setelah dikeringkan untuk peralatan gelas (tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, pipet tetes kaca, gelas ukur serta gelas piala) disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Gelas ukur, pipet tetes kaca, tip dan cawan petri dibungkus menggunakan koran. Tabung reaksi ditutup dengan kapas, sedangkan erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan plastik, jarum ose disterilisasi diatas lampu bunsen sampai pijar.

Pembuatan Media

1. Pembuatan media MRS Broth

De Man Ragosa Sharpe Broth (MRS Broth) adalah media untuk perbanyak bakteri asam laktat. Pembuatan dimulai dengan menimbang sebanyak 2,61 gram MRS Broth dimasukkan ke dalam beaker glass, dilarutkan dengan akuades hingga volume 50 ml. Larutan didistribusikan ke dalam tabung reaksi dengan tiap-tiap tabung reaksi berisi sebanyak 5 ml dan ditutup menggunakan setup. Selanjutnya dimasukkan ke dalam *autoclave* untuk disterilisasi pada suhu 121°C tekanan 1 atm dan dibiarkan selama 15 menit. Media siap digunakan untuk perbanyak bakteri.

2. Pembuatan media Nutrient Broth

Nutrient Broth (NB) adalah media untuk perbanyak bakteri patogen. Pembuatannya dimulai dengan menimbang 0,4 gram bubuk *Nutrient Broth* dan dilarutkan dengan akuades hingga volume menjadi 50 ml. Larutan didistribusikan ke dalam tabung reaksi pada tiap-tiap bagian sebanyak 5 ml, lalu ditutup dengan setup. Selanjutnya disterilkan di dalam *autoclave* pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Selanjutnya media siap digunakan.

3. Pembuatan Media Muller Hinton Agar (MHA)

Muller Hinton Agar (MHA) adalah media untuk *plating*, pembuatannya dimulai dengan menimbang bubuk MHA sebanyak 6,12 gram dan dilarutkan dengan akuades sehingga volumenya menjadi 180 ml. Larutan yang terbentuk dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dipanaskan hingga

homogen. Selanjutnya disterilisasi selama 15 menit didalam *autoclave* pada suhu 121°C. Kemudian media dituangkan ke dalam cawan petri masing-masing 20 ml dan dibiarkan memadat.

Perbanyak bakteri asam laktat

Perbanyak bakteri asam laktat dilakukan dengan menginokulasikan isolat *L. plantarum* 1 RN2-53, *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-12112, *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040, masing-masing sebanyak 100 µl ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml MRS Broth. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sehingga diperoleh kultur aktif yaitu perubahan media menjadi keruh. Kultur aktif ini siap digunakan untuk pembuatan starter. Diagram alir proses perbanyak bakteri asam laktat dapat dilihat pada Lampiran 1.

Perbanyak Bakteri Uji

Perbanyak bakteri uji dapat dilakukan dengan menginokulasi isolat *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19 masing-masing sebanyak 100 µl ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sehingga diperoleh kultur aktif yaitu ditandai adanya perubahan media menjadi keruh yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri. Kultur aktif ini siap digunakan untuk pembuatan starter. Diagram alir proses perbanyak bakteri uji dapat dilihat pada Lampiran 2.

Persiapan Supernatan Bebas Sel Bakteri Asam Laktat

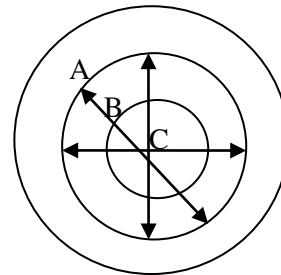
Bakteri *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-53, *Lactobacillus*

plantarum 1 RN2-12112, *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 masing-masing sebanyak 100 µl diinokulasi ke dalam masing-masing tabung reaksi yang berisi 5 ml media *De Man Rogosa Sharpe Broth* (MRS Broth) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator. Kemudian media yang berisi isolat lalu dituang ke dalam tabung reaksi kecil atau kuvet dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Cairan yang terbentuk disebut supernatan bebas sel yang mengandung senyawa metabolit yang terbentuk selama fermentasi. Diagram alir persiapan supernatan bebas sel dari isolat bakteri asam laktat dapat dilihat pada Lampiran 3.

Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat

Uji aktivitas antimikroba dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri asam laktat dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji, menggunakan metode sumur yang mengacu pada Poelongan dkk. (2006) dan NCCLS (2000). Media MHA yang telah disterilkan sebanyak 20 ml dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri dan dibiarkan memadat pada suhu kamar. Kemudian media diinokulasikan dengan 0,1 ml suspensi bakteri uji, diratakan menggunakan *hockey stick* dan didiamkan hingga kering. Selanjutnya dibuat lubang (sumuran) dengan menggunakan ujung pipet steril dan lubang sumuran dilapisi agar steril. Sebanyak 100 µl isolat bakteri asam laktat dimasukkan ke dalam sumuran yang telah disediakan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Aktivitas antimikroba ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar

sumuran. Zona bening yang terbentuk diukur diameternya sebanyak tiga kali menggunakan jangka sorong pada posisi yang berbeda dan dirata-ratakan. Metode pengukuran zona hambat isolat bakteri asam laktat dapat dilihat pada Gambar 6.



Keterangan:

A : Cawan Petri (media MHA)

B : Zona Hambat (zona bening)

C : Sumuran

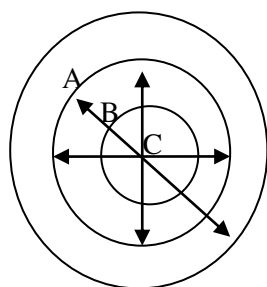
↔ : Pengukuran zona hambat

Gambar 6. Metode pengukuran zona hambat isolat bakteri asam laktat.

Uji Aktivitas Antimikroba Supernatan Bebas Sel

Uji aktivitas antimikroba supernatan bebas sel dilakukan untuk mengetahui kemampuan supernatan bebas sel dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji menggunakan metode difusi pada kertas cakram yang mengacu pada Poelongan dkk. (2006). Media MHA yang telah disterilkan dimasukkan ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 20 ml hingga memadat. Media tersebut diinokulasi dengan 0,1 ml suspensi bakteri uji dan diratakan menggunakan *hockey stick*. Kemudian kertas cakram kering dicelupkan ke dalam supernatan bebas sel dan ditempatkan diatas media MHA yang telah diinokulasi bakteri uji. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Diameter zona hambat
Diameter zona hambat diukur dengan jangka sorong sebanyak tiga kali pada posisi yang berbeda dan dirata-ratakan. Metode pengukuran zona hambat isolat bakteri asam laktat dapat dilihat pada Gambar 7.



Keterangan:

A : Cawan Petri (media MHA)

B : Zona Hambat (zona bening)

C : Kertas cakram

↔ : Pengukuran zona hambat

Gambar 7. Metode pengukuran zona hambat supernatan bebas sel.

Analisis Data

Data yang diperoleh ditabulasikan dan dianalisis secara statistik dengan menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan's New Multiple Range Test* (DNMRT) pada taraf 5%. Uji T dilakukan untuk membandingkan

antara zona hambat isolat dan supernatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat

Antimikroba adalah senyawa kimiawi atau biologis yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba, (Fardiaz, 1992). Uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dilakukan terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19. Hasil uji aktivitas penghambatan oleh isolat beberapa bakteri asam laktat terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19 yang dianalisis secara statistik menunjukkan pengaruh yang nyata ($P < 0.05\%$). Data yang diperoleh menunjukkan bahwa *Escherichia coli* FNCC-19 lebih sensitif dan memiliki zona hambat yang lebih besar jika dibandingkan *Staphylococcus aureus* FNCC-15. Hasil sidik ragam dapat dilihat pada Lampiran 6 dan 7. Gambar zona hambat isolat bakteri asam laktat yang terbentuk dapat dilihat pada Lampiran 14 (Gambar 5 dan 6). Rata-rata diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Diameter zona hambat bakteri asam laktat terhadap bakteri uji

Jenis isolat	Zona Hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i> FNCC-15	<i>E. coli</i> FNCC-19
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1RN2-12112	8,08 ^d	9,20 ^d
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1RN2-53	7,46 ^c	8,70 ^c
<i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC 0051	6,92 ^b	7,22 ^b
<i>Streptococcus thermophilus</i> FNCC 0040	6,10 ^a	6,80 ^a

Ket: Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf 5%.

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk menunjukkan bahwa adanya aktivitas antimikroba isolat BAL terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19. *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-12112 memiliki zona hambat lebih besar dibandingkan dengan isolat bakteri asam laktat lainnya yaitu 8,08 mm pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan 9,20 mm pada bakteri uji *Escherichia coli* FNCC-19. Bakteri *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 memiliki zona hambat terkecil yaitu 6,10 mm pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* FNCC-158 dan 6,80 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* FNCC-19.

Berdasarkan hasil pengujian statistik menggunakan uji T (Lampiran 10 dan 11) terlihat bahwa aktivitas antimikroba bakteri asam laktat lebih besar terhadap bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 jika dibandingkan *Staphylococcus aureus* FNCC-15. Berdasarkan uji zona hambat, penghambatan lebih besar pada bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*) jika dibandingkan dengan bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri uji yang berasal dari golongan Gram negatif lebih sensitif terhadap aktivitas

senyawa antimikroba dari bakteri asam laktat dibandingkan dengan bakteri uji yang berasal dari golongan Gram positif. Dinding sel Gram negatif lebih tipis sehingga senyawa antimikroba bakteri asam laktat akan lebih mudah masuk ke dalam membran sel, sehingga merusak dinding sel bakteri asam laktat. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang lebih tebal sehingga antimikroba akan lebih sulit untuk menembus dinding sel bakteri asam laktat (Yulinery dkk., 2009). Asam laktat memiliki efek bakterisidal pada pH dibawah 5, terutama pada bakteri Gram negatif (Ray 2000).

Daya hambat isolat bakteri asam laktat dan bakteri pembanding *Lactobacillus acidophilus* FNCC-0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC-0040 secara statistik berbeda nyata. Aktivitas antimikroba dari *Lactobacillus* terutama dapat disebabkan oleh produksi asam laktat, asetat, format, kaproat, propionat, butirrat dan asam valerat, senyawa H_2O_2 serta bakteorisin (Rostini, 2007). Kondisi asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat tersebut dapat menghambat bakteri yang sensitif terhadap pH rendah dan tidak bisa tumbuh. Nilai pH medium yang diinokulasikan oleh BAL dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai pH medium yang diinokulasikan dengan bakteri asam laktat

Jenis Isolat	pH
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 RN2-12112	3,57
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 RN2-53	3,62
<i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC 0051	3,93
<i>Streptococcus thermophilus</i> FNCC 0040	3,99

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa pH medium

yang telah diinokulasi BAL berkisar antara 3,57-3,99. Nilai pH medium

MRS Broth sebelum diinokulasi BAL adalah 6,5 dan setelah diinokulasi BAL dan diinkubasi selama 24 jam terjadi penurunan nilai pH akibat terbentuknya asam-asam organik. Medium yang diinokulasikan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 memiliki nilai pH berkisar 3,59-3,99 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC-0040 memiliki nilai pH 3,99 lebih tinggi bila dibandingkan dengan nilai pH medium yang diinokulasi *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-12112 memiliki nilai pH 3,57 dan *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-53 memiliki nilai pH 3,62. Hal ini menunjukkan bahwa produksi asam oleh *Lactobacillus plantarum* lebih tinggi jika dibandingkan dengan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040. Hal inilah yang diduga menyebabkan isolat bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-12112 memiliki daya hambat lebih besar.

Hasil penelitian yang dilakukan Wisti dkk. (2014) medium yang diinokulasikan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 memiliki nilai pH 5,2 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC-0040 memiliki nilai pH 4,0 lebih tinggi bila dibandingkan dengan medium yang diinokulasi *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2

memiliki nilai pH 3,8 dan *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 memiliki nilai pH 3,8. Terbentuknya asam laktat oleh BAL dapat menyebabkan penurunan pH sehingga pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif yang tidak tahan pH rendah akan terhambat. Bakteri *Escherichia coli* tumbuh pada pH 7,0-7,5 (Supardi dan Sukanto, 1999), sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* tumbuh pada pH 4,0-9,8 (Rostinawati, 2010).

Aktivitas Antimikroba Supernatan Bebas Sel Bakteri Asam Laktat

Supernatan bebas sel diperoleh menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit tujuannya adalah untuk memisahkan sel dan supernatan. Hasil sentrifugasi yang mengendap di bagian bawah tabung reaksi berupa padatan (sel), sedangkan cairan (supernatan) berada di bagian atas.

Data yang diperoleh menunjukkan bahwa pengujian aktivitas antimikroba supernatan bebas sel terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19 yang dianalisis secara statistik menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0.05$). Rata-rata diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Diameter zona hambat supernatan bebas sel pada bakteri uji

Jenis Supernatan	Zona Hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i> FNCC-15	<i>E. coli</i> FNCC-19
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1RN2-12112	2,41 ^d	3,50 ^d
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1RN2-53	2,03 ^c	3,01 ^c
<i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC 0051	1,43 ^b	2,60 ^b
<i>Streptococcus thermophilus</i> FNCC 0040	1,22 ^a	2,06 ^a

Ket: Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf 5%.

Hasil penelitian pada Tabel 3 menunjukkan bahwa supernatan bebas sel dari bakteri asam laktat yang diuji secara keseluruhan bisa menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Daya hambat bakteri *Lactobacillus plantarum* 1RN2-12112 lebih besar bila dibandingkan dengan supernatan bebas sel lainnya yaitu memiliki diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 sebesar 3,50 mm, sedangkan diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* FNCC-15 sebesar 2,41 mm. Hal ini disebabkan oleh supernatan bebas sel *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-12112 memiliki nilai pH lebih rendah dibandingkan dengan supernatan bebas sel lainnya dan aktivitas antimikroba dari supernatan bebas sel disebabkan supernatan menghasilkan senyawa yang bersifat asam yang dapat merusak dinding sel bakteri patogen (Berdy, 2005). Aktivitas hambatan supernatan bebas sel terhadap pertumbuhan bakteri uji akan terbentuk zona bening di sekitar kertas cakram. Pengamatan

dilakukan dengan mengukur dan membandingkan zona bening dari setiap perlakuan tiap supernatan. Supernatan bebas sel dari bakteri asam laktat memiliki daya hambat yang berbeda ditunjukkan oleh besar atau kecilnya zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Semakin luas zona hambat maka akan semakin besar aktivitas antimikrobanya. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Wisti dkk. (2014) yang menyatakan bahwa supernatan bebas sel isolat bakteri asam laktat mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15.

Kelompok bakteri asam laktat dari *Lactobacillus* dapat memproduksi substansi antimikrobial dan bakteriosin yang bersifat bakterisidal terhadap mikroba patogen. Selain bakteriosin, nilai pH dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Supernatan bebas sel memiliki pH seperti terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai pH supernatan bebas sel bakteri asam laktat

Jenis Supernatan	pH
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 RN2-12112	3,66
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 RN2-53	3,72
<i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC 0051	4,01
<i>Streptococcus thermophilus</i> FNCC 0040	4,15

Data pada Tabel 4 pengukuran pH menunjukkan bahwa supernatan bebas sel bersifat asam dengan rentang nilai 3,66-4,15. Supernatan bebas sel memiliki nilai pH lebih tinggi bila dibandingkan dengan isolatnya, sedangkan zona hambat yang dihasilkan oleh supernatan bebas sel memiliki zona hambat yang lebih kecil

dibandingkan dengan zona hambat yang dihasilkan oleh isolatnya. *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-12112 memiliki zona hambat yang lebih besar, hal ini disebabkan oleh nilai pH yang lebih rendah jika dibandingkan dengan supernatan bebas sel lainnya yaitu 3,66. Nilai pH isolat yang rendah disebabkan karena adanya produksi asam-asam

organik oleh bakteri asam laktat, sehingga dapat menurunkan pH media (Januarsyah, 2007). Semakin rendah pH semakin kuat dan cepat efek antibakterinya.

Pada penelitian ini hasil pengukuran zona hambat lebih besar demham menggunakan bakteri asam laktat sebanyak 100 µl jika dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan Wisti dkk. (2014) menggunakan 50 µl bakteri asam laktat sedangkan pada penelitian ini penggunaan bakteri asam laktat sebanyak 100 µl. Prescott (2005) menyatakan perbedaan besarnya diameter zona hambat dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa antibakteri, tingkat sensitivitas dari organisme uji. Semakin banyak BAL yang

tumbuh maka semakin banyak produksi asam laktat. Pertumbuhan bakteri patogen akan terhambat jika total asam semakin meningkat dan mengakibatkan zona bening semakin besar. yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi dapat diakibatkan karena adanya perbedaan besar kecilnya konsentrasi atau banyak sedikitnya kandungan zat aktif antibakteri yang terkandung didalamnya serta kecepatan difusi dari senyawa anitibakteri. Semakin banyak BAL yang tumbuh maka semakin banyak produksi asam laktat yang dihasilkan. Hasil zona hambat isolat dan supernatan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel. 5. Diameter zona hambat isolat dan supernatan terhadap bakteri uji

Jenis Isolat	Zona Hambat (mm)			
	<i>Staphylococcus aureus</i> FNCC-15		<i>Escherichia coli</i> FNCC-19	
	Isolat	Supernatan	Isolat	Supernatan
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1RN2-12112	8,08 ^a	2,41 ^b	9,20 ^a	3,50 ^b
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1RN2-53	7,46 ^a	2,03 ^b	8,70 ^a	3,01 ^b
<i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC 0051	6,92 ^a	1,43 ^b	7,22 ^a	2,60 ^b
<i>Streptococcus thermophilus</i> FNCC 0040	6,10 ^a	1,22 ^b	6,80 ^a	2,06 ^b

Ket: Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf 5%.

Data pada Tabel 5 menunjukkan bahwa isolat bakteri asam laktat memiliki diameter zona hambat lebih besar jika dibandingkan dengan supernatan bebas sel bakteri asam laktat terhadap bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 bila dibandingkan *Staphylococcus aureus* FNCC-15. Berdasarkan pengujian statistik menggunakan uji T (Lampiran 12 dan 13) menunjukkan bahwa isolat dan supernatan bebas sel bakteri asam laktat memiliki zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19 dengan perbedaan

yang nyata. Kecilnya zona hambat superntan bebas sel disebabkan karena supernatan bebas sel hanya memiliki metabolit sekunder hasil dari metabolisme bakeri asam laktat yaitu berupa asam organik, bakteriorisin, hidrogen peroksida, etanol dan diasetil. Hal ini menyebabkan penghambatan terhadap bakteri patogen yang hanya didukung oleh hasil metabolit sekunder, akan tetapi sel bakteri asam laktat yang menghasilkan metabolit dalam hal ini sudah terpisah. Besarnya diameter zona hambat yang terbentuk berbanding

lurus dengan aktivitas antimikroba isolat bakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Seluruh Isolat dan supernatan bebas sel bakteri asam laktat (*Lactobacillus plantarum* 1 RN2-53, *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-12112, *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051, *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 dengan penghambatan lebih besar terhadap bakteri *Escherichia coli* FNCC-19.
2. Isolat *Lactobacillus plantarum* 1 RN2-12112 memiliki daya hambat lebih besar dibandingkan dengan isolat dan supernatan bebas sel BAL lainnya terhadap bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 dengan diameter 9,20 mm sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC-15 memiliki diameter 8,08 mm untuk isolatnya sedangkan supernatan bebas sel terhadap *Escherichia coli* FNCC-19 memiliki diameter 3,50 mm, pada bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC-15 memiliki diameter 3,41 mm.

DAFTAR PUSTAKA

Alakomi, H. L., E. Skytta, Saarela, dan S. T. Mattia. 2000. **Lactic acid permeabilizes Gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane.** Applied and Environmental Microbiology, volume 66 : 2001-2005.

Berdy, J. 2005. **Bioactive microbial metabolites.** Review Article.

Journal Antibiot, volume 58 : 1-26.

Fardiaz, S. 1992. **Mikrobiologi Pangan.** Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Januarsyah, T. 2007. **Kajian aktivitas hambat bakteriosin dari bakteri asam laktat galur scg 1223.** Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Kusumaningrum., Yusmarini dan A. Ali. 2014. **Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat amilolitik dari industri pengolahan pati sagu.** JOM Faperta, volume 2(1) : 4-6.

Poelongan, M., Chairul, I. Komala, S. Salmah dan M. N. Susan. 2006. **Aktivitas antimikroba dan fitokimia dari beberapa tanaman obat.** Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.

Prescott, L. M. 2005. **Microbiology.** Mc. Grow-Hill. New York.

Rostinawati, T. 2010. **Aktivitas antimikroba ekstra herbau herba tespong (Oenanthe javavica D.C) terhadap Escherichia coli, Staphylococcus aureus dan Candida albicans.** Penelitian Mandiri Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jatinangor. Bandung.

Supardi. 1999. **Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Produk Pangan .** Penerbit Alumni Bandung. Bandung

Wisti, A., Yusmarini dan Rahmayuni. 2014. **Aktivitas Antimikroba Lactobacillus plantarum 1 yang diisolasi dari susu kedelai terfermentasi secara spontan.** JOM Faperta, volume 1 (2) : 3-6.

- Yulinery, T. dan N. Nurhidayat.
2015. **Uji aktivitas antibakteri *Lactobacillus plantarum* terseleksi dari buah markisa (*Passiflora edulis*) dan kaitannya dengan genplantarisin A (*plnA*)**. Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia, volume 1 (2) : 273.
- Yusmarini., U. Pato dan V. S. Johan.
2014. **Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari industri pengolahan pati sagu dan pemanfaatannya dalam memodifikasi pati sagu secara mikrobiologis**. Laporan Penelitian Hibah Bersaing. Universitas Riau. Pekanbaru.